

616.988.25-002:576.895.421

MIKROSTRUKTURA LESNÍCH OHNISEK KLÍŠŤOVÉ ENCEFALITIDY V JIŽNÍCH ČECHÁCH

RNDr. Karel KRIVANEC, RNDr. Miroslav VLČEK
Vojenský zdravotní ústav, České Budějovice
(ředitel: pplk. MUDr. Peter Gál)
Parazitologický ústav Akademie věd ČR, České Budějovice
(ředitel: RNDr. Jan Prokopič, DrSc.)

Problematika výzkumu klíšťové encefalitidy (KE) má u nás více než 40letou tradici. Během celého období bylo o různých aspektech tohoto závažného onemocnění publikováno jen našimi autory více než tisíc nejrychlejších sdělení (Hubálek, 1986). Otázkám výzkumu přírodních ohnisek klíšťové encefalitidy byla věnována ve střední Evropě řada prací, avšak detailnější pohled najdeme jen ojediněle. Jedná se především o práce rakouských autorů z Vídeňské univerzity (Pretzmann a spol., 1967; Radda a spol., 1967), pracovníků a spolupracovníků Virologického ústavu SAV v Bratislavě (Nosek a Grulich, 1967; Nosek a spol., 1968) a z ruských autorů pak řadu studií shrnul Korenberg (1979).

V původních předpokladech byl kladen důraz především na úlohu drobných myšovitých hlodavců při šíření klíšťové encefalitidy a rozvoji jejich ohnisek (Havlík, 1954; Kolman, 1965). Tyto představy se rychle zakořenily v obecném povědomí, a odsunuly tak názory autorů, z jejichž výsledků vyplynula primární role větších a velkých divoce žijících savců v cirkulaci tohoto agens. Ačkoliv byla ekologie klíšťové encefalitidy u nás věnována nemalá pozornost, byla oblast jižních Čech z tohoto hlediska prakticky téměř

opomenuta, přestože zde klíšťová encefalitida patří patrně k nejvýznamnějším přírodně ohniskovým onemocněním. Na základě detailního studia mikrostruktury ohniska klíšťové encefalitidy v povodí Malše u Kaplice jsme se pokusili o vlastní pohledy na tuto problematiku.

Materiál a metody

V období let 1986-1990 jsme prováděli výzkum aktivního ohniska KE v katastru obce Žďár u Kaplice, ležící na levém břehu řeky Malše v nadmořské výšce 500-510 m v lesním komplexu začleněném jako acidofilní doubrava. Na lokalitě bylo vymezeno 5 výzkumných ploch o rozloze 500-800 m². Osou vybraného území je bezejmenný levostranný přítok Malše. Plochy č. 1, 2, 4 a 5 se nacházejí v řídkém borovém lese s podrostem borůvky, ostřice a lipnic, plocha 3 je zatrávněná paseka s náletem břízy. Detailně byla sledována plocha č. 2 o výměře 605 m².

Klíšťata druhu *Ixodes ricinus* byla lovena smýkáním pomocí vlnkové metody. Po roztržení byla homogenizována v roztoku PBS (pH 7,4) s 3 % bovinního

fetálního séra s antibiotiky. Z plochy č. 2 byl každý dospělec vyšetřován jednotlivě a nymfy po jedné až pěti. Supernatant ze suspenzí klíšťat byl očkován po 0,01 ml intracerebrálně a 0,03 ml subkutánně rodinkám sajících jednodenních až třídních bílých myší (ICR).

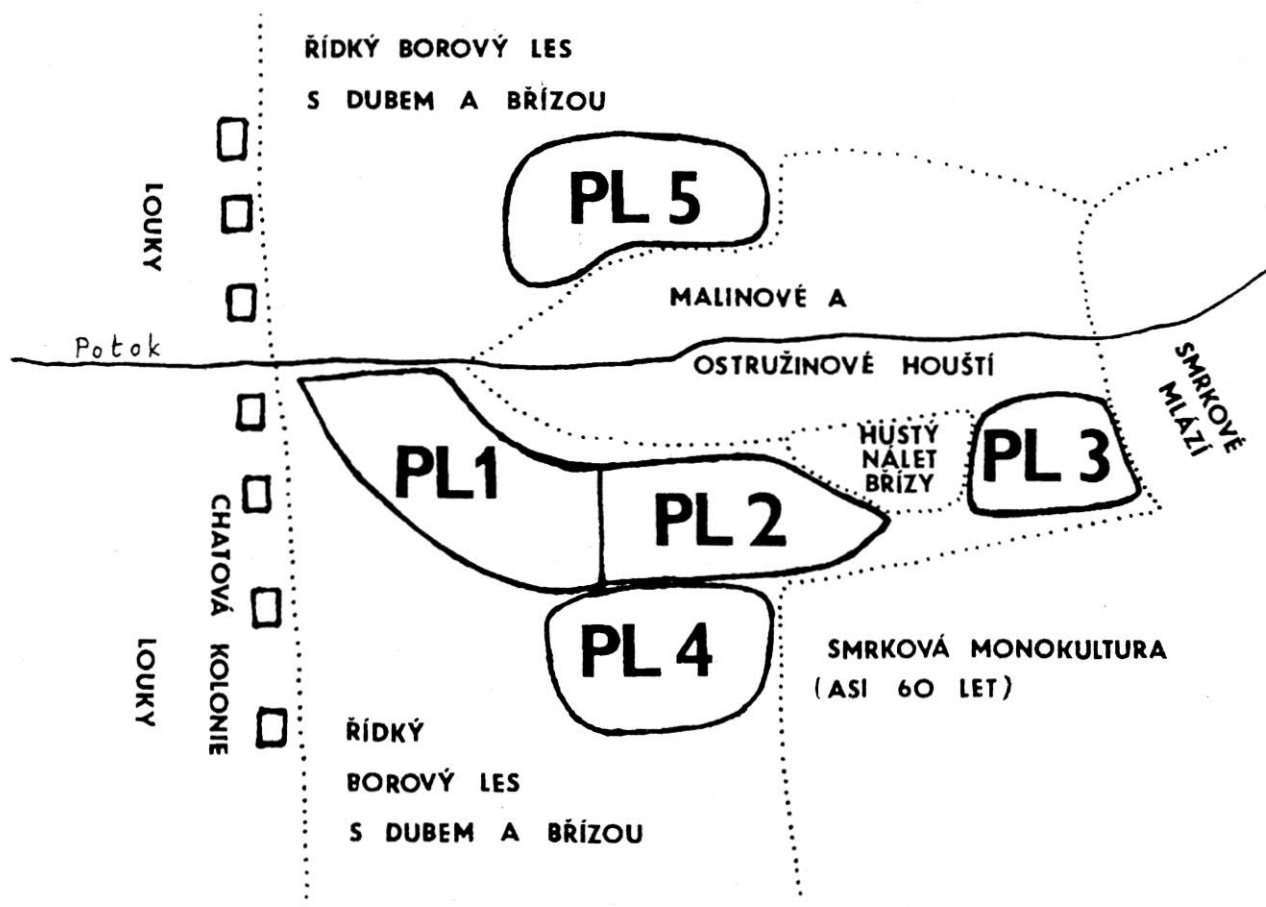
Odchyty drobných savců byly prováděny v měsíčních intervalech do živolovek vnađených pšenicí a do malých skladovacích pastí se standardní návnadou. Na ploše č. 1 a 2 byly pasti kladeny v podstatě statistickým způsobem tak, že na jeden odchytný bod připadlo asi 12-15 m². Mozky nemocných nebo uhynulých bílých myší a mozky a sleziny divoce žijících savců byly po homogenizaci v PBS s antibiotiky a bovinním sérem použity k dalšímu pasážování na sajících bílých myších. Přesná identifikace virového agens byla prováděna neutralizačním plakredukčním testem a pomocí vlastního testu ELISA. Sérologicky byly krevní vzorky vyšetřeny standardně metodikou HIT.

Výsledky

V období červen 1986 až červen 1990 bylo na sledovaném území (obr. 1) provedeno 29 sběrů klíšťat. Z plochy č. 1 bylo získáno 440 klíšťat, poměr

dospělců a nymf byl 1:2,14, byly získány 4 izolace VKE (0,91 %). Z plochy č. 2 bylo získáno 1565 klíšťat, poměr dospělců a nymf byl 1:2,39, počet izolací VKE byl 19, viroformnost 1,2 %. Z plochy č. 3 bylo získáno 424 jedinců, poměr dospělců k nymfám byl 1:0,74, izolace VKE byly 2, viroformnost 0,47 %. Z plochy č. 4 se získalo 483 klíšťat, poměr dospělců a nymf byl 1:2,93, byly získány 2 izolace VKE, viroformnost byla 0,41 % a z plochy č. 5 jsme získali 307 klíšťat (1:2,27), izolovány byly 3 kmeny VKE, viroformnost činila 0,98 %.

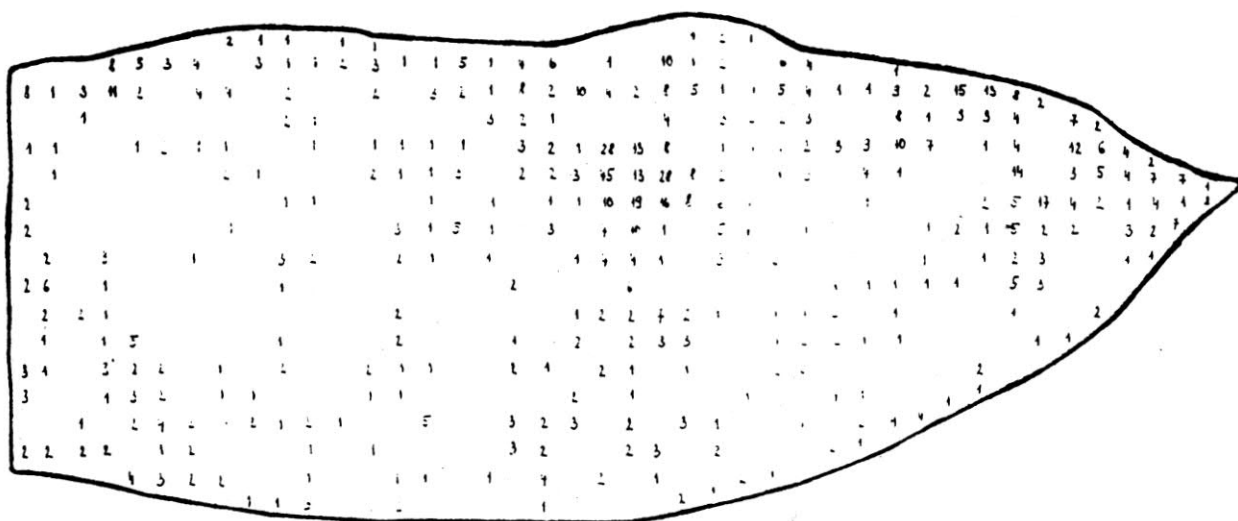
Výskyt a plošné rozložení imag druhu *I. ricinus* za celé sledované období na ploše č. 2 ukazuje obrázek 2. Dospělá klíšťata byla nalezena pouze na 37 % mikroplošek o rozměru 1 m² v počtu 1-8 jedinců. Početnost 5 a více dospělých klíšťat byla nalezena pouze na 5 mikroplochách o rozměru 1 m² (0,8 % celkové plochy). Početnost a rozložení výskytu nymf *I. ricinus* na ploše č. 2 je zachycena na obrázku 3. Nymfy byly rozmístěny velmi nerovnoměrně, s největší koncentrací kolem osamoceně brízy, kde na ploše o rozměru 1 m² bylo sebráno až 45 jedinců, přičemž z okolních 13 m² bylo sebráno 210 nymf a izolován pouze jeden kmen VKE (0,48 %). Početnost 5 nymf a více byla nalezena za sledované období na 8,9 % mikro-



Obr. 1 Situační mapka zkoumané lokality



Obr. 2 Přesná lokalizace úlovků dospělých klišťat *Ixodes ricinus* za období 1986-1990 na ploše č. 2 Kaplice-Žďár (Soutok)



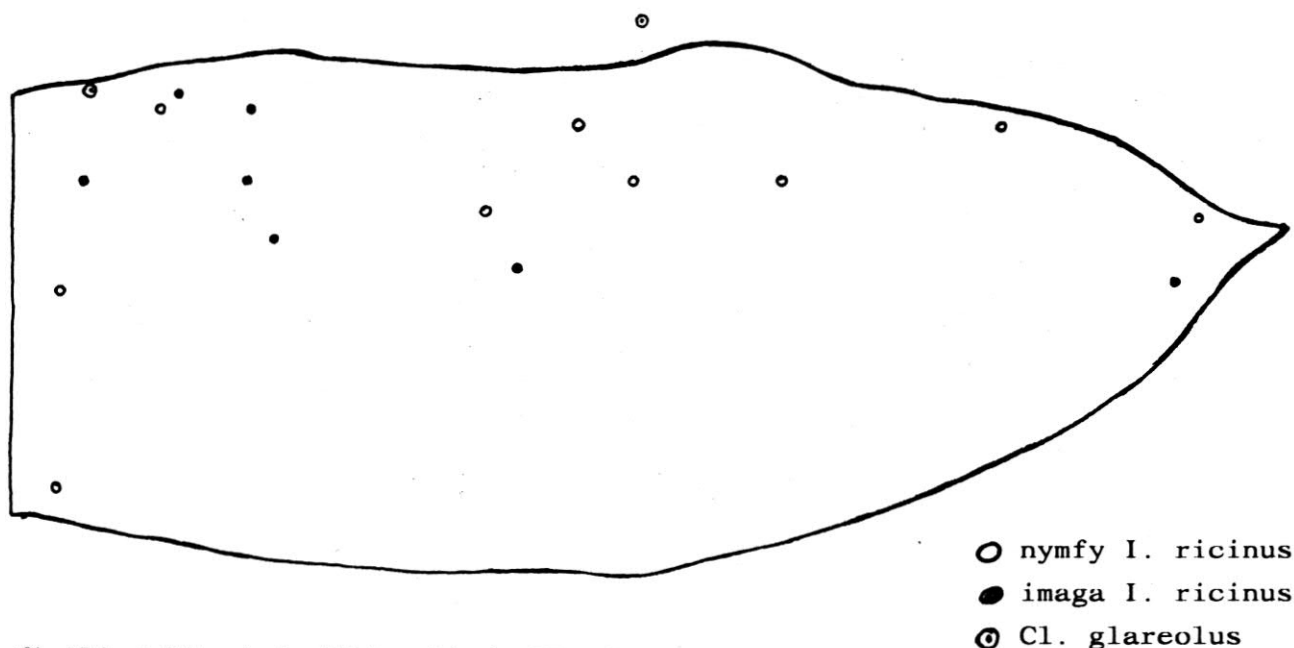
Obr. 3 Úlovky nymf druhu *Ixodes ricinus* za období 1986-1990 na ploše č. 2

plošek, 10 a více nymf pak už jen na 3,1 % zkoumané plochy č. 2. Na 43 % mikroploch nebyly nymfy zjištěny vůbec.

Klišťata infikovaná VKE se vyskytovala na ploše č. 2 v průběhu celého vegetačního období s výjimkou srpna. Z dospělců pocházelo devět izolací (1,95 %) a z nymf jedenáct izolací VKE (1,0 %). Z celkového počtu devatenácti izolací VKE se bohužel čtyři nepodařilo blíže umístit do zkoumané plochy. I přesto je však patrné z obrázku 4, že jsou tyto izolace rozmístěny asymetricky, s jasnou převahou v polovině přiléhající k malinikovému houští.

V biotopu původně acidofilní doubravy přeměněné v porost borovice (60 let) s vtroušeným dubem bylo zjištěno 8 druhů drobných savců. Ve společenstvu převládají 4 dominantní druhy: *Cl. glareolus* (57,44 %), *A. sylvaticus* (19,15 %), *S. araneus* (10,64 %) a *A. flavicollis* (6,36 %). Dále byly zjištěny druhy *S. minutus*, *M. agrestis*, *M. nivalis* a *M. erminea*.

Z 212 virologicky vyšetřených drobných savců se nám podařilo izolovat VKE v 6 případech - 4krát z norníka rudého (*Cl. glareolus*) a 2krát z myšice pokřovní (*A. sylvaticus*). Z lesních biotopů pochálely 3 izolace a z ekotonu okraje lesa a polí také 3 izolace



Obr. 4 Rekonstrukční mapa přesně lokalizovaných izolací VKE na ploše č. 2 za období 1986-1990

VKE. Z detailně sledované plochy č. 2 byly z 50 izolačně vyšetřených zvířat získány 2 kmeny VKE. Významný je jediný izolační záchyt VKE ze zimního období z *Cl. glareolus* (5. 1. 1989), ostatních 5 izolací pocházelo z letního období.

Sérologicky jsme vyšetřili 220 krevních vzorků a v 76 případech jsme našli anti-TBE HI protilátky. Prevalence protilátek proti KE kolísala během roku mezi 8,0 % v lednu a 60,29 % v září. Protilátky byly zjištěny u 6 druhů savců: *Cl. glareolus*, *A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *S. araneus*, *M. arvalis* a *M. agrestis*. Na podzim r. 1989 jsme vyšetřili séra pěti zajíců polních (*L. europaeus*) ulovených na této lokalitě a ve třech případech jsme zjistili přítomnost anti-TBE HI protilátek. Zajímavým faktem byla i zpravidla nízká hladina zjištěných titrů u výše uvedených savců (1:20).

Diskuse

O přírodním ohnisku KE hovoří Korenberg (1983) jako o části zemského povrchu obsazené populací viru KE. Takovéto ohnisko má ostrůvkovitý charakter nebo zaujímá úsek velkého lesního masívu, má však vždy velice jasné ohraničení, v rámci něhož existují populace vnímavých hostitelů, přenašečů a viru.

Při studiu mikrostruktury přírodních ohnisek KE se nelze vyhnout otázkám souvisejícím s vektorem viru. V námi studované lokalitě, kde se nachází aktivní ohnisko KE lesního typu, hraje rozhodující roli vektor klíště obecné (*I. ricinus*). Pozornost jsme věnovali i vyhodnocení poměru mezi počtem aktivních dospělců a nymf. Tento poměr se ukázal jako odlišný v biotopu borového lesa (1:2,14-2,72) v porovnání s biotopem zatravněné mýtiny (1:0,84). Z celkového poměru mezi

dospělci a nymfami, který o něco přesahuje poměr 1:2, se můžeme domnívat, že v podmínkách tohoto ohniska má šanci přežít do stadia dospělého necelých 50 % nymf.

Zajímavé jsou i otázky počtu klíšťat na jednotku plochy, nejčastěji na jeden hektar, od kterých lze odvodit i odhad absolutního počtu infekčních klíšťat v dobře ohraničeném ohnisku. Radda a spol. (1967) uvádějí v údajích z dolního Rakouska u imag 750-1500 jedinců na jeden hektar. Nosek a spol. (1970) soudí, že průměrná populační hustota klíšťat se v ohnisku KE v Topolčiankách pohybovala v polovině dubna 1970 na úrovni 46 000 nymf a 50 000 dospělců na 1 hektar. Rosický (1956) udává po přepočtu ze středních Čech denzitu 1500 imag a 36 000 nymf za rok na 1 hektar. V našem případě bychom odhadli hustotu dospělých klíšťat na ploše č. 2 asi na 5000 jedinců a u nymf na 10 000 jedinců na hektar za rok, což považujeme za silný stupeň zaklíštění.

V našich předpokladech bychom mohli vycházet z 1% viroformnosti dospělců a 0,5% viroformnosti nymf, což by představovalo z takovéto plochy ročně okolo 100 infekčních klíšťat na jeden hektar. Tento údaj pokládáme spíše za horní ohraničení možností existujících na této lokalitě. Situace v zaklíštění ostatních ploch nás však nutí uvažovat o nižších hodnotách, tedy 10-20 infekčních jedinců za rok na jeden hektar.

Při analýze rozmístění nymf a dospělců *I. ricinus* na sledované ploše č. 2 se ukazuje, že místa se silnějším zaklíštěním nesouvisejí s místy, kde byly zjištěny kolonie malých zemních savců. Domníváme se, že jako přenašeči se tedy museli uplatnit větší a velcí savci (zajíc, srnec), jejichž přítomnost byla na lokalitě pravidelně pozorována. U nymf a larev bychom mohli uvažovat i o případné možnosti jejich šíření větrem.

Ani při mapování výskytu infikovaných klíšťat na ploše č. 2 jsme nezjistili zjevnou přímou souvislost

s koloniemi malých zemních obratlovců. Domníváme se, že se infikovaná klíšťata dostala do této lokality prakticky jediné zanesením většími a velkými savci. Z těchto důvodů se spíše přikláníme k názorům Pretzmanna a spol. (1967) a Korenberga (1979), že malí zemní savci mohou jen nevýznamně měnit míru infikovatelnosti klíšťat virem KE a že tato zvířata nejsou hlavními hostiteli v přírodních ohniscích.

Závěr

Při studiu mikrostruktury lesního ohniska klíšťové encefalitidy v povodí horní Malše u Kaplice jsme zjistili mozaikovitou strukturu v plošném rozložení infikovaných klíšťat. Na jedné z ploch bylo odhaleno jádro ohniska, po jehož úplném vyznačení a zúžení by se virofornost klíšťat pohybovala v rozmezí 1-2 % u imag druhu *I. ricinus*. Na ostatních plochách mimo jádro ohniska se virofornost imag pohybovala okolo 0,5 %. Virofornost nymf byla zjištěna přibližně na poloviční úrovni než u dospělců. Nezjistili jsme zásadní změny v dlouhodobém vývoji virofornosti klíšťat, což ukazuje na značnou stabilitu tohoto ohniska. Menší výkyvy od normálu se v následující sezóně opět vyrovnávaly.

Za stěžejní otázku je třeba považovat stanovení primární hostitelské role v procesu cirkulace viru KE v tomto lesním ohnisku. Domníváme se, že tuto úlohu zde plní větší a velcí savci (zajíc, srnec) a že role malých zemních savců je sekundární a spočívá hlavně v zajištění trofických vazeb pro larvy *I. ricinus*.

Sérologické metodiky pro vyjadřování vztahu populační imunity pokládáme za méně vhodné pro hodnocení cirkulace viru KE v přírodních ohniscích této nákazy vzhledem k sezónním změnám v prevalenci protilátek, rychlé směně populací těchto zvířat a volbě vhodných odchytových míst.

Souhrn

V období let 1986-1990 byl prováděn výzkum aktivního ohniska klíšťové encefalitidy v katastru obce Žďár u Kaplice. Na lokalitě bylo vymezeno 5 výzkum-

ných ploch o rozloze 500-800 m. Na jedné z ploch bylo odhaleno jádro ohniska, po jehož úplném vyznačení a zúžení by se virofornost klíšťat pohybovala v rozmezí 1-2 % u imag druhu *I. ricinus*. Na ostatních plochách mimo jádro ohniska se virofornost imag pohybovala okolo 0,5 %. Virofornost nymf byla zjištěna přibližně na poloviční úrovni než u dospělců.

Literatura

1. HAVLÍK, O.: Význam myších kalamit pro epidemiologii čs. klíšťové encefalitidy. Čs. Epidem., 3, 1954, s. 300-303.
2. HUBÁLEK, Z.: Czechoslovak bibliography on tick-borne encephalitis 1949-1985. Czechosl. Bibl. Epid. Microbiol., 15, 1986, Suppl. 1-121.
3. KOLMAN, J. M.: Contribution to the possible forecast of an epidemic-borne encephalitis. "Theoretical Questions on Natural Foci of Diseases". 209-224, Publ. House Czech. Acad. Sci., Prague 1965.
4. NOSEK, J. - GRULICH, I.: The relationship between the tick-borne encephalitis virus and the ticks and mammals of the Tribeč mountain range. Bull. W.H.O., 36, 1967, Suppl. 1, s. 31-47.
5. NOSEK, J. - KOŽUCH, O. - GRULICH, I.: The structure of tick-borne encephalitis (TBE) foci in Central Europe. Oecologia encephalitis (Berl.), 5, 1970, s. 61-73.
6. NOSEK, J. - KOŽUCH, O. - RADDA, A.: Untersuchungen über die Ökologie des Virus der Zentraleuropäischen Encephalitis in Nordmähren. Zbl. Bakt. I. Orig., 208, 1968, s. 81-87.
7. PRETZMANN, G. - RADDA, A. - LOEW, J.: Die Verteilung virustragender Zecken in Naturherden der Frühsommer-Meningo-encephalitis (FSME = CEE). Zbl. Bakt. I. Orig., 203, 1967, s. 30-46.
8. RADDA, A. et al.: Beitrag zur Kenntnis der Syn-Ökologie des Virus der Zentraleuropäischen Encephalitis. Zbl. Bakt. I. Orig., 202, 1967, s. 273-296.
9. ROSICKÝ, B.: Parazitologické a issledovania čast issledovania prirodnoj očagovosti encefalitov v Centralnoj Evrope. Proc. Conf. on natural focus encephalitis in Central Europe. Smolenice: 18, 1956.
10. KORENBERG, E. I.: Melkie mlekopitajuščie i problema prirodnoj očagovosti kleshčevogo encefalitida. Zool. Ž., 58, 1979, s. 542-552.
11. KORENBERG, E. I.: Čto takoe prirodnyj očag. Biologija 2. Moskva, Znanie 1983, 64 s.

Klíčová slova: Klíšťová encefalitida; Mikrostruktura ohniska TBE.

Do redakce došlo 1. 11. 1994